

김치유산균 *Lactobacillus plantarum* CJLP55 섭취가 성인 남녀의 피부 산도 및 관련 구성 인자의 변화에 미치는 영향*

한상신¹, 신지혜¹, 임선희¹, 안희윤², 김봉준², 조윤희^{1†}

¹경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과, ²CJ제일제당 식품연구소 유용미생물팀

Dietary effect of *Lactobacillus plantarum* CJLP55 isolated from kimchi on skin pH and its related biomarker levels in adult subjects*

Sangshin Han¹, Jihye Shin¹, Sunhee Lim¹, Hee Yoon Ahn², Bongjoon Kim² and Yunhi Cho^{1†}

¹Department of Medical Nutrition, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University, Yongin, Gyeonggi 17104, Korea

²CJ Foods R&D Center, CJ CheilJedang Corporation, Suwon, Gyeonggi 16495, Korea

ABSTRACT

Purpose: The skin pH is maintained by epidermal lactate, free fatty acids (FFAs), and free amino acids (FAAs). As a significant determinant of skin health, the skin pH is increased (less acidic) under abnormal and aged skin conditions. In a search for dietary alternatives that would promote an acidic skin pH, this study investigated the dietary effects of *Lactobacillus plantarum* CJLP55 isolated from Korean kimchi on the skin pH, and epidermal levels of lactate, FFAs, and FAAs in adult subjects. **Methods:** Seventy eight subjects (mean age 24.9 ± 0.5 years, range 19 ~ 37 years) were assigned randomly to ingest CJLP55, *Lactobacillus* strain from kimchi, (n = 39, CJLP group) or placebo supplements (n = 39, placebo group) for 12 weeks in a double-blind, placebo-controlled trial. Skin pH and epidermal levels of lactate, FFAs and FAAs were assessed at 0, 6 and 12 weeks. **Results:** Although significant decreases in skin pH were observed in both the CJLP and placebo groups at 6 weeks, the skin pH was decreased significantly only in the CJLP group at 12 weeks. In parallel, the epidermal level of lactate in the CJLP group was also increased by 25.6% at 12 weeks. On the other hand, the epidermal level of FAAs were not altered in the CJLP and placebo groups, but the epidermal level of total FFAs, including palmitic acid and stearic acid, was lower in the CJLP group than in the placebo group over 12 weeks. The changes in the other FFAs, such as palmitoleic acid and oleic acid, were similar in the CJLP and placebo groups over 12 weeks. **Conclusion:** Overall, a dietary supplement of CJLP55 promotes acidic skin pH with a selective increase in epidermal lactate in adult subjects.

KEY WORDS: skin pH, *Lactobacillus plantarum*, lactate, free amino acid, free fatty acid

서 론

피부의 외각을 구성하는 표피 (epidermis) 층은 pH 4 ~ 6범위의 약산성 방어막을 형성하여 피부 장벽의 기능을 한다 [1,2]. 이러한 피부의 약산성 방어막은 자외선 및 병원성 미생물 등 외부 요인으로부터 신체적 손상을 보호할 뿐 아니라 체온 유지와 수분 조절의 기능을 하는데 유리아미노산, 젖산 및 유리지방산의 총 함량에 의해 결정되는

것으로 알려져 있다 [3-5]. 젖산은 피부 산도 (pH)에 관여하는 중요 인자로 젖산탈수소효소 (Lactate Dehydrogenase, LDH)에 의해 생성되며 [6], 유리지방산은 인지질의 가수분해를 통해 생성되고 유리아미노산은 filaggrin의 분해과정에서 생성되는 것으로 알려져 있다 [7-10]. 이외에 암모니아, 칼륨 농도 등이 피부 산도에 다소 영향을 미치는 것으로 보고되어 있으나 유리아미노산, 젖산 및 유리지방산이 피부 산도에 영향을 미치는 주요 인자들로 알려져 있

Received: December 10, 2018 / Revised: February 14, 2019 / Accepted: February 14, 2019

* This study was supported by a grant from CJ Foods R&D Center, CJ CheilJedang Corporation in Suwon-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea (KHU grant No. 20150943).

† To whom correspondence should be addressed.
tel: +82-31-201-3817, e-mail: choyunhi@khu.ac.kr

© 2019 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

다. 피부 건강 지표로 인식되어 있는 피부 산도는 질병 발생이나 피부 노화가 진행됨에 따라 증가되는데 이는 표피의 유리아미노산, 젖산 및 유리지방산의 함량의 감소가 병행된다. 즉 아토피 피부염 환자에서의 유리아미노산과 젖산의 감소가 피부 산도 증가와 병행됨이 확인되었으며, 피부 노화가 진행됨에 따라 피부 산도가 증가됨이 확인되었다 [11-14].

최근에 다양한 식이 소재들이 피부 관련 건강기능식품 소재로 개발되고 있다 [15]. 피부건강에 도움을 주는 건강기능식품의 원료로 히알루론산나트륨, 소나무껍질추출물, 등복합물, 지초추출 분말, 곤약감자추출물, 쌀겨추출물, 홍삼·사상자·산수유복합추출물, N-아세틸글루코사민, AP 콜라겐효소분해펩타이드, 스피루리나, 알로에겔, 클로렐라, 클렙록소함유식품이 기능성원료로 인정받고 있는데, 그중에서도 프로바이오틱스 (probiotics)는 장내 미생물들의 구성을 바꾸고 항균 물질을 생산하며 신체의 면역기능을 개선할 뿐 아니라, 피부 보습을 증진하고, 노화억제 및 아토피 피부염의 가려움증을 개선하는 등 피부 건강을 조절하는 것으로 알려지고 있다 [16,17]. 여러 프로바이오틱스 중 특히 우리나라 김치의 발효과정에서 생성되는 *Lactobacillus plantarum*은 표피층에서 피부 수분을 증가시키고 표피 두께를 감소시켜 피부 노화를 예방하고, 진피층에서는 피부 선천 면역 및 아토피 피부염 개선에 관여하며 화상 피부의 회복에 효능이 있음이 보고되었다. 또한 김치유산균은 면역 과민 반응에 대한 피부 가려움을 개선하며, 유산균 증식, 유해균 억제 및 배변활동 원활에 도움을 주는 것으로 보고되었다 [18-20]. 흥미롭게도 *In vitro* 연구에서는 *Lactobacillus plantarum*이 쌀 발효에서 산도를 낮출 뿐 아니라, pH 2~3에서도 탁월한 생존 효과를 갖는 것으로 보고되었으나 섭취에 의한 피부 산도 개선 효능에 대한 연구 보고는 전무하다 [21,22]. 이에 본 연구는 피부 노화가 시작되는 20~30대 성인 남녀를 대상으로 김치에서 추출한 *Lactobacillus plantarum* 섭취가 피부 산도 및 표피의 유리아미노산, 젖산과 유리지방산의 함량 변화에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

연구방법

연구대상

본 연구는 20~30대 건강한 성인 남녀 90명을 모집하여 동의를 얻은 후 진행하였고 12주간의 섭취 기간 동안 항생제 복용 및 피부과 시술을 받은 대상자를 제외한 최종 78명을 대상으로 실시하였다. 시료는 (주)제일제당에서 제공받았다. 무작위로 선정된 피험자에게 김치유산균 [CJLP

Group: *Lactobacillus plantarum* CJLP55 10^{10} Colony Forming Unit (CFU) 함유 분말 9%, 말토덱스트린 45.5%, 분말 포도당 45.5%] 또는 위약 분말 [Placebo Group: 말토덱스트린 50%, 분말 포도당 50%]을 2 g/회/1일 복용 방법으로 12주간 섭취하게 하였다. 연구 기간 동안 순응도는 매주 전화로 모니터링을 하였다. 본 연구는 경희대학교 생명윤리 위원회 승인을 받았다 (승인번호 : KHSIRB 2018-016).

피부 산도 측정

세안 후 온도 18~26°C, 습도 26~53%가 유지된 공간에서 30분 동안 경과 후 동의를 한 피험자에 한하여 pH meter (PH905, Courage-Khazaka, Germany)를 이용하여 이마 부위에 총 5회 측정해 평균값을 사용하였다. 측정 시 피험자의 이마 부분을 가볍게 눌러 나타낸 수치를 기록하였다.

표피 시료채취 및 전 처리

이마 부위에 5개의 원형 테잎 (22-mm D-SQUAME Tape; Cu-Derm Corporation, USA)을 10분간 이마에 부착 후 떼어내어 분석 전까지 -20°C에 보관하였다. 원형 테잎에 Methanol 10 mL를 가하고 상온에서 5분간 초음파 처리하여 테잎에서 각질층을 채취하였다. 원심분리 후 상층은 Lowry 방법을 응용하여 [23] 단백질을 정량하였으며, 하층은 기존에 제시된 방법으로 [24] 지질을 추출하였다. 추출된 상층 샘플 3 mL를 취하고 Cold trap/Vacuum pump/Modulspin 40 (speed vac)을 이용하여 증발시킨 후 1% SDS/phosphate buffer saline (PBS) 300 μ l를 가하여 전처리 하였다.

유리아미노산 함량 분석

전처리에서 얻어진 상층 추출액을 L-Amino Acid Quantitation Colorimetric/Fluorometric Kit (Biovision Co., South Milpitas Boulevard, CA, USA)을 이용하여 유리아미노산 함량을 측정하였다. 농도별 L-Amino Acid Standard 및 추출액 30 μ l를 96well plate에 분주한 후 각 well에 L-Amino Acid Assay Buffer를 20 μ l를 가하고, 이어서 L-Amino Acid Oxidase가 함유된 L-Amino Acid Enzyme Mix 50 μ l를 가하였다. Plate를 호일에 싸서 37°C에서 30분간 방치하여 L-Amino Acid Oxidase 효소에 의해 유리아미노산이 α -Keto Acid와 암모니아 (ammonia, NH_3) 및 과산화수소 (hydrogen peroxide, H_2O_2)로 산화되고, 이어서 H_2O_2 가 Colorimetric Probe와 1:1 산화 반응하여 생성된 청색의 formazan의 함량을 Perkin Elmer 2030 Multilabel Reader (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Turku, Finland)을 이용하여 570 nm 파장에서 측정하였다. 유리아미노산 함량은 단백질 정량과 함께 nmol/ μ g protein으로 표시하였다.

젖산 함량 분석

전처리에서 얻어진 상층 추출액을 Lactate Colorimetric/Fluorometric Assay Kit (Biovision Co., South Milpitas Boulevard, CA, USA)을 이용하여 젖산 함량을 분석하였다. 농도별 L(+)-Lactate Standard 및 추출액 15 μ l를 96 well plate에 분주한 후 각 well에 Lactate Assay Buffer 35 μ l와 젖산탈수소효소 (Lactate Dehydrogenase, LDH) 및 Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD)가 함유된 Lactate Enzyme Mix 50 μ l를 가하였다. Plate를 호일로 싸서 상온에서 30분간 방치하여, LDH에 의해 젖산이 피루브산(Pyruvic acid)으로 전환될 때 생성되는 NADH에 비례하여 환원되는 붉은색의 formazan의 함량을 Perkin Elmer 2030 Multilabel Reader (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Turku, Finland)을 이용하여 570 nm 파장에서 측정하였다 [25,26]. 젖산 함량은 단백질 정량과 함께 nmol/ μ g protein으로 표시하였다.

유리지방산 함량 측정

전처리에서 얻어진 하층의 지질 추출물을 folch 용액 (CHCl_3 :MeOH = 2:1, v/v)에 녹인 뒤 silica gel glass plates (10 \times 10 cm; HX54710531, EMD Millipore Co., Germany)에 점적하고, high performance thin-layer (HPTLC) 분석법을 응용하여 유리지방산을 분획하였다. 즉 유리지방산 (Free Fatty Acid, FFA)은 전개액 Hexane: Diethyl ether: Acetic acid (7:3:0.1, v/v/v)을 9.5 cm까지 전개시켜 분획하였다 [27]. 분획된 유리지방산을 박층으로부터 긁어낸 후 Folch 용액에 녹여 추출하고 internal standard인 methyl C15:0 (Pentadecanoic, methyl, N-15-M, Nu-check, USA) 첨가 후 6% HCl을 함유한 Methanol을 가하여 지방산을 methylation 시켰다 [28]. 이어서 Gas chromatograph (GC) (GC-17A, Shimadzu, Japan)에 주입하고 SPB-225 fused silica capillary column (30 m \times 0.25 mm \times 0.15 μ m: Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 이용하여 각 유리지방산의 함량을 분석하였다. GC 분석 조건은 260°C detector (flameionization detector) port, 250°C injector port에서 oven 온도를 190°C로 5분간 유지시켰으며 4°C/min로 온도를 상승시켜 240°C에서 15분간 유지시켰다. 분리된 각 유리지방산의 함량은 단백질 정량과 함께 nmol/ μ g protein으로 표시하였다.

통계분석

모든 통계 결과는 SPSS, Ver. 21.0 program (statistical package for social science, SPSS)을 사용 분석하였다. 결과는 평균 (mean) \pm 표준오차 (standard error; SEM, n = 39/Group)로 나타냈다. 0주를 기준으로 각 군의 피부 산도

및 유리아미노산, 젖산, 유리지방산 함량의 6주차 및 12주차의 변화는 non-paired student's t-test로 $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***) 수준에서 검증하였다. 군 간의 6주차 및 12주차의 percent change 또는 absolute change는 paired student's t-test로 $p < 0.05$ (#) 수준에서 검증하였다.

결 과

일반적 특성

최종 대상자 78명 (CJLP Group: n = 39명, 남자 17명, 여자 22명, 나이 25.38 ± 0.72 ; Placebo Group: n = 39명, 남자 26명, 여자 13명, 나이 24.62 ± 0.59)의 동의를 얻은 후 본 연구를 진행하였다. 두 군의 신장과 체중은 CJLP Group 166.77 ± 1.15 cm, 64.17 ± 1.42 kg, Placebo Group 169.38 ± 1.26 cm, 67.76 ± 1.94 kg로 군간 유의성이 없었다. 체질량지수 (Body Mass Index, BMI)는 CJLP Group 23.02 ± 0.39 , Placebo Group 23.46 ± 0.46 로 정상에서 경증 비만 사이에 분포하였으며, 이 또한 군간 유의성이 없었다.

김치유산균 식이 공급에 따른 피부 산도변화

김치유산균 *Lactobacillus plantarum*을 섭취한 CJLP 군의 피부 산도는 0주차 5.18 ± 0.07 , 6주차 5.01 ± 0.05 로, 12주차에는 4.80 ± 0.06 으로 0주차에 비해 6주 및 12주에 유의적으로 감소하였다 (6주 : $p = 0.008$, 12주 : $p = 0.000$). Placebo 군의 피부 산도는 0주차 5.28 ± 0.07 , 6주차 5.05 ± 0.05 로, 12주차에는 5.14 ± 0.05 로 0주차에 비해 6주차에 유의적으로 감소하였으나 12주차에는 유의적인 변화가 없었다. 그 결과 군간 비교 시 CJLP 군에서 12주차에 피부 산도가 유의적으로 감소한 것으로 나타났다 ($p = 0.025$) (Fig. 1). 12주차의 변화를 남녀 구분하여 보았을 경우 남성의 경우 0주차 5.23 ± 0.09 , 12주차 4.74 ± 0.10 으로 여성의 경우 0주차 5.15 ± 0.11 , 12주차 4.85 ± 0.06 으로 남성의 피부 산도의 변화가 더 컸다.

김치유산균 식이 공급에 의한 표피 젖산의 함량 변화

CJLP 군의 젖산 함량은 0주차에 비해 6주차 및 12주차에 변화가 없었다. Placebo 군 또한 0주차에 비해 6주차 및 12주차에 유의적 변화가 없었다. 그러나 0주차에서 12주차의 함량 변화에 대한 군간 비교 시, CJLP 군의 12주차의 젖산 함량이 0주차에 비해 $25.56 \pm 13.65\%$ (absolute change: 0.22 ± 0.12 nmol/ μ g protein) 증가한 반면 Placebo 군에서는 $9.76 \pm 9.70\%$ (absolute change: -0.12 ± 0.12 nmol/ μ g protein) 감소하여 이들 변화에 대한 유의성이 $p < 0.05$ 수준에서 나타났다 (Table 1).

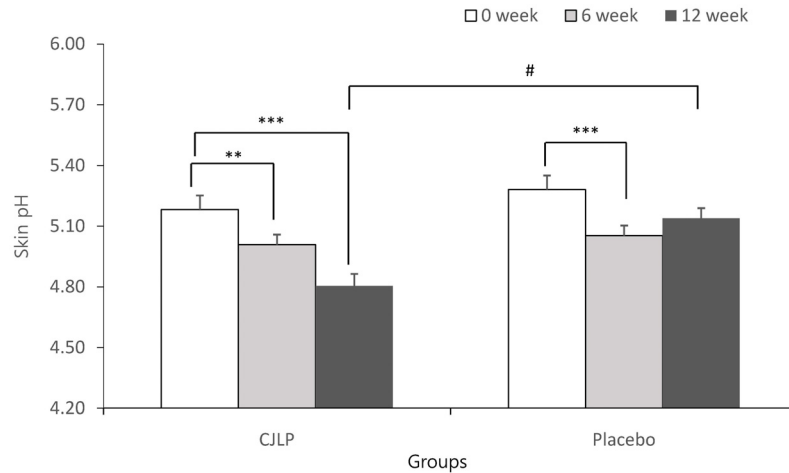


Fig. 1. Altered skin pH in groups. Skin surface pH was measured by skin pH meter. All values are means \pm SEM ($n = 39$ / group). Differences from 0 week within CJLP or Placebo groups were evaluated by Student's paired t-test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Differences between CJLP and Placebo groups were evaluated by Student's unpaired t-test (# $p < 0.05$).

Table 1. Altered lactate levels in the skin surface of groups

| Parameters | Experimental Groups | | p-value ³⁾ | |
|------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|-----------------------|-------|
| | CJLP (n = 39) | Placebo (n = 39) | | |
| Lactate (nmol/ μ g protein) | 0 week | 0.86 \pm 0.15 ¹⁾ | 1.25 \pm 0.15 | |
| | 6 week | 0.97 \pm 0.16 | 1.53 \pm 0.22 | |
| | Absolute change | 0.11 \pm 0.14 | 0.28 \pm 0.20 | 0.479 |
| | Percent change | 12.64 \pm 16.25 | 22.47 \pm 15.66 | 0.665 |
| | p-value ²⁾ | 0.441 | 0.159 | |
| | 0 week | 0.86 \pm 0.15 | 1.25 \pm 0.15 | |
| | 12 week | 1.08 \pm 0.18 | 1.13 \pm 0.14 | |
| | Absolute change | 0.22 \pm 0.12 | -0.12 \pm 0.12 | 0.045 |
| | Percent change | 25.56 \pm 13.65 | -9.76 \pm 9.70 | 0.038 |
| | p-value | 0.069 | 0.320 | |

1) Values are means \pm standard error mean (SEM).

2) p-value for difference from 0 week within CJLP or Placebo groups by student's paired t-test.

3) p-value for difference between CJLP and Placebo groups by student's unpaired t-test.

김치유산균 식이 공급에 의한 표피 총 유리아미노산의 함량 변화

CJLP 군의 총 유리아미노산 함량은 0주차에 비해 6주차 94.6 \pm 32.4% 및 12주차 51.5 \pm 17.6%으로 유의적으로 증가하였다. Placebo 군의 총 유리아미노산 함량은 0주차에 비해 6주차 50.8 \pm 17.7%로 유의적으로 증가하였으나 12주차에는 30.79 \pm 16.98%로 유의적인 변화가 없었다. 그러나 0~12주간의 CJLP 군 및 Placebo 군의 총 유리아미노산 함량은 모두 증가하는 양상을 나타내어 군간 비교 시 유의성이 나타나지 않았다 (Table 2).

김치유산균 식이 공급에 의한 표피 유리지방산의 함량 변화

CJLP 군의 총 유리지방산 함량은 0주차에 비해 12주차

에서 유의적으로 감소하였다 ($p = 0.029$). 개별 유리지방산의 함량 분석 결과 Palmitic acid (PA) (C16:0) > Stearic acid (SA) (C18:0) > Palmitoleic acid (C16:1 n-9) > Oleic acid (C18:1 n-9) 순으로 파악되었는데, CJLP 군의 PA (C16:0) 및 SA (C18:0)은 0주차에 비해 12주차에 유의적으로 감소하였다 (PA: $p = 0.026$, SA: $p = 0.028$). Palmitoleic acid (C16:1 n-9) 함량 또한 6주차 및 12주차에 유의적으로 감소하였으나 Oleic acid (C18:1 n-9)의 함량은 6주차 및 12주차에 변화가 없었다. 반면 Placebo 군에서는 0~12주차간 총 유리지방산의 함량 변화가 없었으며 개별 유리지방산 분석 결과 Palmitoleic acid (C16:1 n-9)이 12주차에서 유의적으로 감소하는 것 외에는 다른 개별 유리지방산의 함량 변화는 없었다. 이들 변화에 대한 군간 유의성 파악 결과 CJLP 군에서 12주차에 PA (C16:0) 및 SA (C18:0) 및

Table 2. Altered free amino levels in the skin surface of groups

| Parameters | Experimental Groups | | p-value ³⁾ | |
|---|-----------------------|-------------------------------|-----------------------|-------|
| | CJLP (n = 39) | Placebo (n = 39) | | |
| Free amino acids (nmol/ μ g protein) | 0 week | 1.05 \pm 0.09 ¹⁾ | 1.16 \pm 0.15 | |
| | 6 week | 2.04 \pm 0.34 | 1.75 \pm 0.24 | |
| | Absolute change | 0.99 \pm 0.34 | 0.59 \pm 0.21 | 0.314 |
| | Percent change | 94.66 \pm 32.43 | 50.81 \pm 17.76 | 0.239 |
| | p-value ²⁾ | 0.006 | 0.007 | |
| | 0 week | 1.05 \pm 0.10 | 1.16 \pm 0.15 | |
| | 12 week | 1.59 \pm 0.21 | 1.52 \pm 0.21 | |
| | Absolute change | 0.54 \pm 0.18 | 0.36 \pm 0.20 | 0.502 |
| | Percent change | 51.54 \pm 17.65 | 30.79 \pm 16.98 | 0.400 |
| | p-value | 0.006 | 0.078 | |

1) Values are means \pm standard error mean (SEM).

2) p-value for difference from 0 week within CJLP or Placebo groups by student's paired t-test.

3) p-value for difference between CJLP and Placebo groups by student's unpaired t-test.

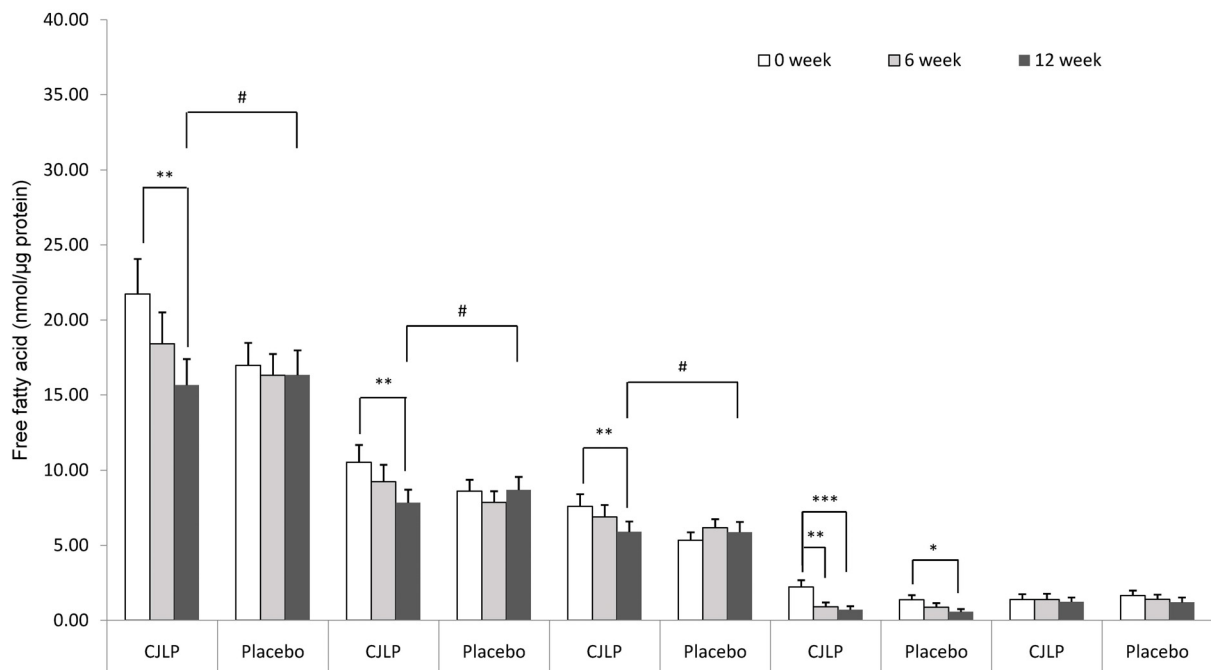


Fig. 2. Altered free fatty acid (FFA) levels in the skin surface of groups. Individual FFA was fractionated by high-performance thin-layer chromatography, eluted, and further analyzed by gas chromatography after acid methanolysis. All values are mean \pm SEM (n = 39 / group). Differences from 0 week within CJLP or Placebo groups were evaluated by paired Student's t-test (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001). Differences between CJLP and Placebo groups were evaluated by unpaired Student's t-test (# p < 0.05).

총 유리지방산 함량이 Placebo 군에 비해 유의적으로 감소하였다 (Fig. 2).

고찰

피부 산도는 성별, 인종, 유전적 배경 및 연령에 따라 변화되는데 검은 피부가 하얀 피부보다 낮고 [29], 남성이 여성보다 더 낮았으며 [30], 염증이 있는 사람보다 건강한

피부 표면의 산도가 낮다. 신생아는 출생 후 피부 산도가 점차 감소하여 6개월 이후에는 성인의 산도와 유사한 수준인 4.0 ~ 5.0가 되고, 피부 노화가 진행됨에 따라 pH가 점차 높아지는 것으로 알려져 있다 [31-33]. 피부 산도가 피부 건강에 미치는 중요성에 비해 관련 소재 연구가 미흡한 실정이나 한 동물실험에서 10주간 자외선 조사와 함께 병행된 1% 수준의 녹차 추출물의 식이 공급은 젖산 및 유리아미노산의 증가와 함께 자외선 조사에 의해 증가된 피부

산도를 정상대조군과 유사한 수준으로 감소시켜 피부산도를 개선할 수 있는 소재로서의 개발 가능성을 보여주었다 [34]. 본 연구에서는 김치유산균 *Lactobacillus plantarum*을 12주간 섭취한 CJLP 군에서 피부 산도가 유의적으로 감소되었는데 이 결과는 김치유산균 *Lactobacillus plantarum* 식이 소재의 섭취에 의해서 산도가 개선될 수 있음을 의미한다.

피부 산도는 표피의 유리아미노산, 젖산 및 유리지방산 인자들의 총 함량에 의해 결정된다 [35]. 표피에 도포된 유리아미노산, 젖산 및 유리지방산이 피부의 정상적인 복원 유지 또는 각질층의 장벽 재생에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다 [13]. 이들 인자 중 유리아미노산은 표피의 에너지원으로 사용되며 피부 산도의 산성화와 보습에 관여하는 중요 인자로 [13,35] peptidyl arginine deiminase (PADs) 및 caspase 등에 의한 filaggrin의 분해 과정을 통해 생성된다 [9,10]. 유리아미노산은 각질층 전체 무게의 40% 또는 표피 내 자연보습인자 (natural moisturizing factor, NMF)의 48% 정도를 차지하며 피부 산도의 산성화와 보습에 관여하는 중요 인자로서 [13], 정상인에 비해 아토피 피부염 환자의 표피에서 유리아미노산의 함량이 감소하는 것으로 알려져 있다 [36]. 그러나 CJLP 군의 유리아미노산 함량이 Placebo 군에 비해 0주에서 12주간에 유의적으로 증가에도 불구하고 군 간의 함량 변화에 대한 유의성은 나타나지 않았다 (Table 1). 이는 김치유산균 *Lactobacillus plantarum*의 섭취에 따른 산도 개선은 유리아미노산 함량 변화와는 무관한 것으로 여겨진다. 유리지방산은 Phospholipase A2 (PLA2) 효소에 의한 인지질의 가수분해를 통해 생성되고 각질층의 피부 장벽 및 산도에 영향을 미치는 주요 인자로 파악되고 있다 [7]. 0~12주간의 비교 시, CJLP 군의 총 유리지방산 함량 및 PA와 SA의 개별 유리지방산이 Placebo 군에 비해 유의적으로 감소하였다. 여드름 환자의 표피에서 중성지방 (triglyceride; TG)의 함량뿐 아니라 SA 및 Palmitoleic acid의 함량이 감소됨이 보고되어 있으나 [37] 본 연구에서는 김치유산균 섭취 후 총 유리지방산뿐 아니라 표피의 주요 개별 유리지방산으로 파악된 PA와 SA의 함량이 감소되는 것으로 파악되었다. 즉 김치유산균 *Lactobacillus plantarum*의 섭취에 따른 산도 개선은 유리지방산 함량의 감소와는 관련이 없는 것으로 여겨진다.

젖산 생성에 관여하는 젖산탈수소효소 (Lactate Dehydrogenase, LDH)의 표피 조직 내 단백질 발현이 진피에 비하여 높으며 [38], 호기적인 상태에서도 강한 활성을 갖는다 [39]. 12주간의 *Lactobacillus plantarum* 섭취 젖산 함량이 유의적으로 증가되었는데 이는 김치유산균 *Lactobacillus*

*plantarum*의 섭취에 의한 피부 산도 개선은 젖산 함량 증가에 의해 초래되었음을 의미한다. 젖산 생산에 관여하는 LDH의 mRNA 전사는 protein kinase A (PKA)와 protein kinase C (PKC) 경로를 통해 활성화된다 [40,41]. 또한 섭취된 *Lactobacillus plantarum*은 장내 젖산의 생성에 의한 장내 산도 감소와 더불어 위장관 점막 연관림프조직 (Gut Associated Lymphoid Tissue, GALT)과 여러 면역 세포에서의 interleukin-10 (IL-10)와 tumor necrosis factor- α , (TNF- α) 등의 사이토카인 또는 항체 분비를 유도한다 [42]. 본 연구에서는 LDH의 mRNA 발현을 파악하지 않았으나 김치유산균 *Lactobacillus plantarum*의 섭취가 IL-10과 TNF- α 의 분비 변화와 더불어 세포의 PKA와 PKC 경로를 활성화시켜 간접적으로 LDH의 mRNA 전사 및 단백질 발현 증가를 통해 젖산의 생성을 증가시켰을 가능성을 제안한다. 추후 동물실험을 통해 김치유산균 *Lactobacillus plantarum* 섭취에 의한 cytokine 및 PKA, PKC의 활성 변화에 대한 연구가 필요한 것으로 여겨진다. 또한 함량이 절대적으로 큰 유리지방산의 감소에도 불구하고 PA의 1/10 수준인 젖산의 함량 증가에 의해 피부 산도가 감소하는지 심도 있는 연구가 필요한 것으로 여겨진다.

요 약

본 연구에서는 12주간 김치에서 추출한 유산균 *Lactobacillus plantarum* 섭취가 피부의 산도 및 관련인자인 유리아미노산, 젖산 및 유리지방산의 함량을 변화시키는지 파악하였다. CJLP 군에서 12주차에 피부 산도가 대조군에 비해 개선되었다. 표피의 유리아미노산 함량은 대조군에 비해 변화하지 않았으며, 총 유리지방산 및 Stearic acid (C18:0), Palmitic acid (C16:0)의 함량은 감소하였다. 그러나 CJLP 군에서 젖산의 함량은 대조군에 비해 12주차에 유의적으로 증가하였다. 즉 김치유산균 *Lactobacillus plantarum* 섭취는 CJLP 군에서 젖산 함량 증가와 함께 산도를 개선하였다.

ORCID

한상신: <https://orcid.org/0000-0002-9217-1573>

신지혜: <https://orcid.org/0000-0003-0270-0409>

임선희: <https://orcid.org/0000-0001-7587-099X>

안희윤: <https://orcid.org/0000-0002-8188-0446>

김봉준: <https://orcid.org/0000-0002-1568-4682>

조윤희: <https://orcid.org/0000-0001-6916-4482>

References

- Fluhr JW, Elias PM. Stratum corneum pH: formation and function of the 'acid mantle'. *Exogenous Dermatology* 2002; 1(4): 163-175.
- Schmid-Wendtner MH, Korting HC. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. *Skin Pharmacol Physiol* 2006; 19(6): 296-302.
- Thurmon FM, Ottenstein B. Studies on the chemistry of human perspiration with especial reference to its lactic acid content. *J Invest Dermatol* 1952; 18(4): 333-339.
- Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther* 2004; 17 Suppl 1: 43-48.
- Garidel P, Fölting B, Schaller I, Kerth A. The microstructure of the stratum corneum lipid barrier: mid-infrared spectroscopic studies of hydrated ceramide:palmitic acid:cholesterol model systems. *Biophys Chem* 2010; 150(1-3): 144-156.
- Goffin P, Lorquet F, Kleerebezem M, Hols P. Major role of NAD-dependent lactate dehydrogenases in aerobic lactate utilization in *Lactobacillus plantarum* during early stationary phase. *J Bacteriol* 2004; 186(19): 6661-6666.
- Fluhr JW, Kao J, Jain M, Ahn SK, Feingold KR, Elias PM. Generation of free fatty acids from phospholipids regulates stratum corneum acidification and integrity. *J Invest Dermatol* 2001; 117(1): 44-51.
- Suzuki N, Ishizaki J, Yokota Y, Higashino K, Ono T, Ikeda M, et al. Structures, enzymatic properties, and expression of novel human and mouse secretory phospholipase A₂s. *J Biol Chem* 2000; 275(8): 5785-5793.
- Matsui T, Miyamoto K, Kubo A, Kawasaki H, Ebihara T, Hata K, et al. SASPase regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing. *EMBO Mol Med* 2011; 3(6): 320-333.
- Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WH. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 9): 1285-1294.
- Eberlein-König B, Schäfer T, Huss-Marp J, Darsow U, Möhrenschräger M, Herbert O, et al. Skin surface pH, stratum corneum hydration, trans-epidermal water loss and skin roughness related to atopic eczema and skin dryness in a population of primary school children. *Acta Derm Venereol* 2000; 80(3): 188-191.
- Choi EH, Man MQ, Xu P, Xin S, Liu Z, Crumrine DA, et al. Stratum corneum acidification is impaired in moderately aged human and murine skin. *J Invest Dermatol* 2007; 127(12): 2847-2856.
- Nakagawa N, Sakai S, Matsumoto M, Yamada K, Nagano M, Yuki T, et al. Relationship between NMF (lactate and potassium) content and the physical properties of the stratum corneum in healthy subjects. *J Invest Dermatol* 2004; 122(3): 755-763.
- Béke G, Dajnoki Z, Kapitány A, Gáspár K, Medgyesi B, Póliska S, et al. Immunotopographical differences of human skin. *Front Immunol* 2018; 9: 424.
- Bourrie BC, Willing BP, Cotter PD. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. *Front Microbiol* 2016; 7: 647.
- Guéniche A, Philippe D, Bastien P, Blum S, Buyukpamukcu E, Castiel-Higounenc I. Probiotics for photoprotection. *Dermatoendocrinol* 2009; 1(5): 275-279.
- Valdéz JC, Peral MC, Rachid M, Santana M, Perdigón G. Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(6): 472-479.
- Lee DE, Huh CS, Ra J, Choi ID, Jeong JW, Kim SH, et al. Clinical evidence of effects of *Lactobacillus plantarum* HY7714 on skin aging: a randomized, double blind, placebo-controlled study. *J Microbiol Biotechnol* 2015; 25(12): 2160-2168.
- Kim H, Kim HR, Jeong BJ, Lee SS, Kim TR, Jeong JH, et al. Effects of oral intake of kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 lysates on skin moisturizing. *J Microbiol Biotechnol* 2015; 25(1): 74-80.
- Giri SS, Sen SS, Saha S, Sukumaran V, Park SC. Use of a potential probiotic, *Lactobacillus plantarum* L7, for the preparation of a rice-based fermented beverage. *Front Microbiol* 2018; 9: 473.
- Lew LC, Liang MT. Bioactives from probiotics for dermal health: functions and benefits. *J Appl Microbiol* 2013; 114(5): 1241-1253.
- Šeme H, Gjuračić K, Kos B, Fujs Š, Štempelj M, Petković H, et al. Acid resistance and response to pH-induced stress in two *Lactobacillus plantarum* strains with probiotic potential. *Benef Microbes* 2015; 6(3): 369-379.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-275.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226(1): 497-509.
- Di Giorgio J. Determination of serum lactic dehydrogenase isoenzymes by use of the "Diagnostest" cellulose acetate electrophoresis system. *Clin Chem* 1971; 17(4): 326-331.
- Imahashi D. Quantitation of LDH isoenzymes by the fluorimetric and colorimetric methods. *Can J Med Technol* 1968; 30(6): 235-248.
- Uchida Y, Hara M, Nishio H, Sidransky E, Inoue S, Otsuka F, et al. Epidermal sphingomyelins are precursors for selected stratum corneum ceramides. *J Lipid Res* 2000; 41(12): 2071-2082.
- Tang W, Ziboh VA. Reversal of epidermal hyperproliferation in essential fatty acid deficient guinea pigs is accompanied by rapid generation of inositol triphosphate. *Arch Dermatol Res* 1988; 280(5): 286-292.
- Wesley NO, Maibach HI. Racial (ethnic) differences in skin properties: the objective data. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4(12): 843-860.
- Jacobi U, Gautier J, Sterry W, Lademann J. Gender-related differences in the physiology of the stratum corneum. *Dermatology* 2005; 211(4): 312-317.
- Visscher MO, Chatterjee R, Munson KA, Pickens WL, Hoath SB. Changes in diapered and nondiapered infant skin over the first month of life. *Pediatr Dermatol* 2000; 17(1): 45-51.

32. Hoeger PH, Enzmann CC. Skin physiology of the neonate and young infant: a prospective study of functional skin parameters during early infancy. *Pediatr Dermatol* 2002; 19(3): 256-262.
33. Zlotogorski A. Distribution of skin surface pH on the forehead and cheek of adults. *Arch Dermatol Res* 1987; 279(6): 398-401.
34. Lee B, Kim J, Hwang J, Cho Y. Dietary effect of green tea extract on epidermal levels of skin pH related factors, lactate dehydrogenase protein expression and activity in UV-irradiated hairless mice. *J Nutr Health* 2016; 49(2): 63-71.
35. Sugawara T, Kikuchi K, Tagami H, Aiba S, Sakai S. Decreased lactate and potassium levels in natural moisturizing factor from the stratum corneum of mild atopic dermatitis patients are involved with the reduced hydration state. *J Dermatol Sci* 2012; 66(2): 154-159.
36. Cabanillas B, Novak N. Atopic dermatitis and filaggrin. *Curr Opin Immunol* 2016; 42: 1-8.
37. Akaza N, Akamatsu H, Numata S, Matsusue M, Mashima Y, Miyawaki M, et al. Fatty acid compositions of triglycerides and free fatty acids in sebum depend on amount of triglycerides, and do not differ in presence or absence of acne vulgaris. *J Dermatol* 2014; 41(12): 1069-1076.
38. Lewis C Jr, Schmitt M, Hershey FB. Heterogeneity of lactic dehydrogenase of human skin. *J Invest Dermatol* 1967; 48(3): 221-225.
39. Ronquist G, Andersson A, Bendsoe N, Falck B. Human epidermal energy metabolism is functionally anaerobic. *Exp Dermatol* 2003; 12(5): 572-579.
40. Boussouar F, Grataroli R, Ji J, Benahmed M. Tumor necrosis factor-alpha stimulates lactate dehydrogenase A expression in porcine cultured sertoli cells: mechanisms of action. *Endocrinology* 1999; 140(7): 3054-3062.
41. Huang D, Hubbard CJ, Jungmann RA. Lactate dehydrogenase A subunit messenger RNA stability is synergistically regulated via the protein kinase A and C signal transduction pathways. *Mol Endocrinol* 1995; 9(8): 994-1004.
42. Haza AI, Zabala A, Morales P. Protective effect and cytokine production of a *Lactobacillus plantarum* strain isolated from ewes' milk cheese. *Int Dairy* 2004; 14(1): 29-38.